

(12) NACH DEM VERTRÄG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
15. Januar 2004 (15.01.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/004750 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 38/00, A61P 37/06, A61K 31/66

(74) Anwalt: KOEPE & PARTNER; Robert-Koch-Str. 1, 80538 München (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/007199

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum:
4. Juli 2003 (04.07.2003)

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

Veröffentlicht:

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

(30) Angaben zur Priorität:
102 30 381.9 5. Juli 2002 (05.07.2002) DE

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): INSTITUT FÜR MEDIZINTECHNOLOGIE MAGDEBURG GMBH IMTM [DE/DE]; Leipziger Strasse 44, 39120 Magdeburg (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ANSORGE, Siegfried [DE/DE]; Am Sportplatz 17, 39191 Hohenwarthe (DE). TADJE, Janine [DE/DE]; Waagestrasse 11, 39118 Magdeburg (DE). LENDECKEL, Uwe [DE/DE]; Leipziger Strasse 44, 39120 Magdeburg (DE).

(54) Title: USE OF ALANYL-AMINOPEPTIDASE INHIBITORS AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING SAID INHIBITORS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON INHIBTOREN DER ALANYL-AMINOPEPTIDASEN UND DIESE UMFASSENDE PHARMAZEUTISCHEN ZUBEREITUNGEN

(57) Abstract: The invention relates to the use of one or several alanyl-aminopeptidase inhibitors and/or enzyme inhibitors which exhibit the same substrate specificity in order to stimulate the production of TGF- β 1 and the expression of TGF- β 1 in and/or on lymphocyte T regulators. The invention also relates to the use of said inhibitors for preventing and/or curing autoimmune, allergic and cardiovascular diseases and to preclude the rejection of transplants. In addition, said invention relates to applications in which peptidic fragments of pathogenic autoantigens or synthetic analogues and/or specific antigenic components of pathogenic microorganisms are used.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Induktion der Produktion von TGF- β 1 und Expression von TGF- β 1 in und/oder auf TregZellen und die Verwendung zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen, Allergien, Arteriosklerose und zur Unterdrückung von TransplantatAbstossungen. Weiter betrifft die Erfindung Verwendungen bei der zusätzlich Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen oder synthetische Analoga und/oder spezifische antigenen Komponenten pathogener Mikroorganismen eingesetzt werden.

WO 2004/004750 A2

Verwendung von Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidasen und diese umfassende pharmazeutischen Zubereitungen

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Induktion der Produktion von TGF- β 1 und Expression von TGF- β 1 in und/oder auf Treg-Zellen und die Verwendung zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen, Allergien, Arteriosklerose und zur Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen. Weiter betrifft die Erfindung Verwendungen bei der zusätzlich Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen oder synthetische Analoga und/oder spezifische antigene Komponenten pathogener Mikroorganismen eingesetzt werden. Die gemeinsame Applikation von Inhibitoren gegen oben genannte Enzyme mit krankheitsspezifischen Antigenen verstärkt die gerichtete Wirkung der Inhibitoren gegen pathogene T-Zell-Klone und ist zur spezifischen Therapie immunologisch bedingter Erkrankungen geeignet.

Es ist bereits bekannt, daß bei Erkrankungen mit Autoimmunpathogenese wie beispielsweise Typ I Diabetes mellitus oder Multiple Sklerose eine Aktivierung und Proliferation von autoreaktiven, d.h. gegen körpereigene Antigene gerichtete Immunzellen, insbesondere von autoreaktiven T-Lymphozyten, dem Krankheitsprozess zugrunde liegen bzw. diesen ausmachen. Ähnliche Mechanismen kommen bei der Entstehung von Abstossungsepisoden nach Organtransplantation mit dem Unterschied zum Tragen, dass hier nicht primär "Autoantigene", sondern "Fremdantigene" aus dem Spenderorgan für die Entwicklung der fatalen Immunantwort verantwortlich sind. In beiden Fällen, d.h. sowohl bei Autoimmunerkrankungen als auch bei Abstossungsreaktionen, kommt es zu einem unerwünschten Bruch der "Toleranz" des Immunsystems gegen die körpereigenen oder vom Transplantat herrührenden Antigene. Ähnliches gilt für die überschiessende Immunantwort bei Allergien.

Die Inhibierung autoreaktiver T-Zellen über lösliches (a) oder membranständiges TGF- β 1 (b) ist in Abb. 5 schematisch dargestellt. Das membranständige TGF- β 1 auf Treg wirkt dabei direkt inhibitorisch auf autoreaktive T-Zellen, indem es an deren TGF- β 1-Rezeptor bindet (Zell-Zell-Kontakt), was Abb. 5 (b) oben zu entnehmen ist. Dieser Zell-Kontakt kann über die gleichzeitige Bindung von sowohl Treg als auch autoreaktiver T-Zelle an eine antigenpräsentierende Zelle (APC, insbesondere dendritische Zellen), erreicht werden. Andererseits können, was Abb. 5 (b) unten zu entnehmen ist, durch vorhergehende Bindung der Treg an die APC diese so verändert werden (Fehlen kostimulatorischer Signale), dass eine nachfolgend bindende autoreaktive T-Zelle nicht aktiviert wird (Anergie). In beiden Fällen zeichnen sich Treg und autoreaktive T-Zelle durch die gleiche Antigen-Spezifität aus.

Erkenntnisse der letzten Jahre zeigen, dass im gesunden Organismus diese "Toleranz" aktiv aufrecht erhalten wird, indem autoreaktive T-Lymphozyten aktiv in ihrer Funktion und ihrem Wachstum unterdrückt werden. Dies wird durch eine spezielle, supprimierende T-Zell-Population, die sogenannten natürlichen regulatorischen T-Zellen (Treg, CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ -Zellen), erreicht. Treg-Zellen entstehen im Thymus [Kawahata K. et al., J. Immunol. 168: 4399-4405, 2002] und machen im peripheren Blut einen Anteil von 5-10% der T-Zellen aus. Sie wirken auf CD4 $^{+}$ -T-Zellen der gleichen Antigen-Spezifität über direkten Zell-Kontakt inhibitorisch. Diese inhibitorische Wirkung wird über eine starke Expression von TGF- β 1 in/auf den Treg

erreicht. Das TGF- β 1 ist dabei auf der Oberfläche der Treg präsentiert und bindet an den TGF- β 1-Rezeptor auf autoreaktiven T-Zellen, was einen völlig neuen Wirkungsmechanismus dieses starken immunsuppressiven Zytokins darstellt [Nakamura et al., J Exp Med 194: 629-644, 2001].

Treg-Zellen hemmen die Autoimmunität effizienter als die Immunantwort gegen "Fremd"-Antigene [Romagnoli P et al., J Immunol 168: 1644-1648, 2002]. Daher haben Einschränkungen oder Verluste der Funktion von Treg-Zellen besondere pathogenetische Bedeutung bei der Entstehung von Autoimmunerkrankungen. Ein direkter Zusammenhang zwischen Zahl/Funktion von Treg-Zellen und der Manifestation von Autoimmunerkrankungen ist für den Typ I-Diabetes [Boudaly S et al., Eur Cytokine Netw 13: 29-37, 2002; Gregori S et al., Diabetes 51: 1367-1374, 2002], die Autoimmun-Enzephalomyelitis (Tiermodell der Multiplen Sklerose) [Furtado GC et al., Immunol Rev 182: 122-134, 2001; Muhallab S et al., Scand J Immunol 55: 264-273, 2002; Hamilton NH et al., Scand J Immunol 55: 171-177, 2002], für die "autoimmune ovarian disease" (AOD) [Tung KS et al., Immunol Rev 182:135-148, 2001], sowie für den Morbus Crohn [Neurath MF et al., J Exp Med 195: 1129-1143, 2002] nachgewiesen worden.

Darüber hinaus sind Treg-Zellen auch für die Unterdrückung intestinaler oder pulmonaler Entzündungen verantwortlich [Singh B et al., Immunol Rev 182: 190-200, 2001; Hori S et al., Eur J Immunol 32: 1282-1291, 2002]. Ebenso eindeutig belegt ist die Rolle von Treg-Zellen für die Unterdrückung von Abstossungsepisoden nach allogener (Fremd-) Organtransplantation [Kingsley CI et al., J Immunol 168: 1080-1086, 2002; Taylor PA et al., Blood 99: 3493-3499, 2002; Chiffolleau E et al., J Immunol 168: 5058-5069, 2002]. All diesen immunsupprimierenden Funktionen der Treg-Zellen ist gemeinsam, dass sie sich durch eine hohe Antigenspezifität auszeichnen, d.h. jeder Treg-Zell-Klon ist gegen ein spezielles Antigen gerichtet und inhibiert autoreaktive T-Zellen der gleichen Antigenspezifität unter normalen physiologischen Bedingungen. Im Falle von Autoimmunerkrankungen geht diese Funktion der Treg verloren und autoreaktive T-Zell-Klone wie sie im Falle des Typ I Diabetes gegen Proteine der pankreatischen Beta-Zelle gerichtet sind, führen zum Ausbruch der Autoimmunerkrankung.

Diese Antigenspezifität kann auf der anderen Seite auch therapeutisch ausgenutzt werden, indem durch gezielte "antigen-spezifische" Aktivierung *in vivo* oder *ex vivo* von Treg- Zellen (bzw. von diese Zellen aktivierenden denritischen Zellen) die Zahl/Funktion dieser Zellen erhöht bzw. wieder hergestellt werden. Dazu ist auch die orale Applikation von "Antigenen" geeignet [Zhang et al., J Immunol 167: 4245-4253, 2001]. Die Herstellung solcher Antigene ist jedoch technisch äußerst zeit- und kostenintensiv und auf Antigen-spezifische T-Zell-Klone beschränkt.

Die besondere Rolle von TGF- β 1 für die Regulation der immunologischen Hyperreaktivität wird durch zwei jüngere Publikationen unterstrichen, die zeigen, dass die durch genetische Manipulation bewirkte Überproduktion von TGF- β 1 in CD4 $^{+}$ -Zellen das Krankheitsgeschehen zu unterdrücken vermag. Da im Falle des Asthma Th2-Zellen an der Pathogenese entscheidend beteiligt sind, kann durch transgene Überproduktion von TGF- β 1 demzufolge die Funktion pathogener Th2-Zell-Klone wirksam inhibiert werden [Hansen G et al., J Clin Invest 105: 61-70, 2000; Thorbecke GJ et al., Cytokine Growth Factor Rev 11: 89-96, 2000]. Der Nachteil dieser Verfahren zur Induktion der Produktion von TGF- β 1 in CD4 $^{+}$ - bzw. Treg-Zellen ist, daß sie eine genetische Manipulation erforderlich machen, die zum einen sehr aufwendig und zum anderen für eine pharmakologische Anwendung am Menschen oder Tier ungeeignet ist.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine effiziente Methode zur Induktion von Produktion und Expression von TGF- β 1 in und/oder auf Treg-Zellen bereitzustellen, die darüber hinaus zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen, Allergien, Arteriosklerose und zur Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen am Mensch oder Tier geeignet ist. Eine weitere Aufgabe ist es, entsprechende pharmazeutische Zubereitungen bereitzustellen, mit denen diese Aufgaben gelöst werden können.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität die Produktion von TGF- β 1 und Expression von TGF- β 1 in und/oder auf Treg-Zellen induzieren und so zur Vorbeugung und Behandlung von

Autoimmunerkrankungen, Allergien und Arteriosklerose geeignet sind und zur Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen dienen können.

Die Erfindung betrifft daher die Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Induktion von Produktion von TGF- β 1 und Expression von TGF- β 1 in und/oder auf Treg-Zellen.

Der Zusammenhang zwischen der Inhibierung von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder der Inhibierung von Enzymen gleicher Substratspezifität und der Induzierung der Produktion und Oberflächenexpression von TGF- β 1 in und/oder auf Treg-Zellen ist bislang nicht bekannt gewesen.

Als Inhibitoren kommen alle Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidasen und alle Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität in Betracht. Bevorzugt kommen Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, Arphamenin, MR 387, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren und deren Ester und Salze, α -Aminophosphonate, α -Aminoboronsäuren, α -Aminoaldehyde, Hydroxamate von α -Aminosäuren, N-Phenylphthalimide, N-Phenylhomophthalimide, α -Ketoamide, Thalidomid und dessen Derivate zum Einsatz. Besonders bevorzugt unter diesen sind α -Ketoamide, α -Aminophosphinsäuren, N-Phenylhomophthalimide, α -Aminophosphonate und Phebestin, wobei besonders bevorzugt als α -Ketoamide 3-Amino-2-oxo-4-phenylbutansäureamide, als α -Aminophosphinsäuren D-Phe- γ [PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, als N-Phenylhomophthalimide PAQ-22, als α -Aminophosphonate RB3014 und/oder Phebestin, und ganz besonders bevorzugt PAQ-22, RB3014 und/oder Phebestin eingesetzt werden.

Vorteilhaft an den bevorzugten und den besonders bevorzugten Inhibitoren ist insbesondere die einfache Zugänglichkeit, der geringe Preis und die einfache galenische Verarbeitbarkeit.

Als Enzym mit gleicher Substratspezifität wie die Alanyl-Aminopeptidasen sei hier beispielhaft die zytosolische Alanyl-Aminopeptidase genannt. Für die zytosolische Alanyl-Aminopeptidase ist PAQ-22 spezifisch. Als bevorzugter Inhibitor der zytosolischen Alanyl-

Aminopeptidase wird daher PAQ-22 verwendet, oder eine Mischung mehrerer Inhibitoren eingesetzt, die PAQ-22 umfaßt.

Die Hemmung der enzymatischen Aktivität der membranständigen Alanyl-Aminopeptidase (APN, CD13, EC 3.4.11.2) oder die Hemmung von Enzymen mit gleicher Substratspezifität und Inhibitorschwäche (wie z.B. der zytosolischen Alanyl-Aminopeptidase, zAAP, PSA, EC3.4.11.14) erhöht die Genexpression von TGF- β 1 in Treg-Zellen sowie die Expression des immunsuppressiven Zytokins TGF- β 1 ("transforming growth factor β 1") in/auf regulatorischen Zellen. Diese Induktion der Produktion und insbesondere der Oberflächenexpression von TGF- β 1 bewirkt selektiv die Stärkung bzw. Restitution der Funktion von Treg-Zellen und ist aufgrund der oben genannten Zusammenhänge zwischen der Expression von TGF- β 1 auf den Treg-Zellen und der inhibitorischen Wirkung auf autoreaktive T-Lymphozyten geeignet, die bei Autoimmunerkrankungen und entzündlichen Erkrankungen, bei Allergien sowie bei Abstossungsepisoden nach Organtransplantation bestehenden funktionellen Defizite der Treg-Zellen zu überwinden und somit die Vorbeugung dieser Erkrankungen zu erlauben und/oder den Verlauf bzw. die Schwere dieser Erkrankungen zu verbessern und/oder diese Erkrankungen zu heilen. Alle diese Erkrankungen und die Abstossungsepisoden nach Organtransplantation sind durch das Fehlen eines ausreichend wirksamen natürlichen immunsuppressiven Prinzips, d. h. nicht ausreichend funktionierende immunregulatorische Zellen einschließlich einer defizienten Produktion von TGF- β 1 gekennzeichnet. Die erfindungsgemäße Induktion von TGF- β 1 ist nicht auf einzelne Antigen-spezifische T-Zell-Klone beschränkt.

Daher betrifft die Erfindung auch die Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen. Erfindungsgemäß bevorzugt ist die Verwendung zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Rheumatoider Arthritis, Lupus erythematodes, Multipler Sklerose, IDDM, Morbus Crohn, Colitis Ulcerosa, Psoriasis, Neurodermitis, Glomerulonephritis, interstitieller Nephritis, Vaskulitis, autoimmuner Schilddrüsenerkrankungen, autoimmunhämolytischer Anämie, oder anderen chronischen Erkrankungen mit entzündlicher Genese wie beispielsweise der Arteriosklerose. Besonders bevorzugt ist die Verwendung zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Multipler Sklerose oder Arteriosklerose.

Erfnungsgemäß werden ein Inhibitor oder mehrere Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität auch zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Allergien vom Typ I nach Gell und Coombs oder Allergien vom Typ II, III oder IV eingesetzt. Dabei ist die Verwendung zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Asthma bronchiale oder Heuschnupfen als Allergie vom Typ I nach Gell und Coombs und/oder Kontaktallergien als Allergien vom Typ II, III oder IV bevorzugt.

Die Erfindung betrifft weiter die Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen, bevorzugt bei Nieren- oder Knochenmarktransplantationen.

Bei der Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen, Allergien und Heuschnupfen und bei der Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen kommen als Inhibitoren alle Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidasen und alle Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität in Betracht. Bevorzugt werden Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, Arphamenin, MR 387, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren und deren Ester und Salze, α -Aminophosphonate, α -Aminoboronsäuren, α -Aminoaldehyde, Hydroxamate von α -Aminosäuren, N-Phenylphthalimide, N-Phenylhomophthalimide, α -Ketoamide, Thalidomid und dessen Derivate eingesetzt. Besonders bevorzugt unter diesen sind α -Ketoamide, α -Aminophosphinsäuren, N-Phenylhomophthalimide, α -Aminophosphonate und Phebestin, wobei besonders bevorzugt als α -Ketoamide 3-Amino-2-oxo-4-phenylbutansäureamide, als α -Aminophosphinsäuren D-Phe- γ [PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, als N-Phenylhomophthalimide PAQ-22, als α -Aminophosphonate RB3014 und/oder Phebestin, und ganz besonders bevorzugt PAQ-22, RB3014 und/oder Phebestin eingesetzt werden.

Als Enzym mit gleicher Substratspezifität wie die Alanyl-Aminopeptidasen sei hier beispielhaft die zytosolische Alanyl-Aminopeptidase genannt. Für die zytosolische Alanyl-Aminopeptidase ist PAQ-22 spezifisch. Als bevorzugter Inhibitor der zytosolischen Alanyl-

Aminopeptidase wird daher PAQ-22 verwendet, oder eine Mischung mehrerer Inhibitoren eingesetzt, die PAQ-22 umfaßt.

Wegen der hohen Antigenspezifität der Treg-Zell-Klone scheint die gemeinsame Applikation von Aminopeptidase-Inhibitoren mit den die jeweilige Erkrankung verursachenden Antigenen, zum Beispiel antigenen Peptide des "myelin basic protein" bei der Multiplen Sklerose, für die Therapie besonders geeignet, da auf diese Weise gezielt und spezifisch die Hemmung der pathogenen T-Zell-Klone bewirkt wird. Die Antigen-spezifische Immunsuppression ist praktisch nebenwirkungsfrei [Zhang et al., J Immunol 167: 4245-4253, 2001].

Daher betrifft die Erfindung auch die Verwendung von Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Induktion von Produktion von TGF- β 1 und Expression von TGF- β 1 in und/oder auf Treg-Zellen und zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen, Allergien, Heuschnupfen, Arteriosklerose sowie zur Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen, bei der zusätzlich Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen oder synthetische Analoga und/oder spezifische antigenen Komponenten pathogener Mikroorganismen eingesetzt werden. Die oben aufgeführten in Frage kommenden Inhibitoren und die bevorzugten und besonders bevorzugten Inhibitoren sowie die bevorzugten und besonders bevorzugten Erkrankungen sind auch bei der Verwendung bevorzugt, bei der zusätzlich Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen oder synthetische Analoga und/oder spezifische antigenen Komponenten pathogener Mikroorganismen eingesetzt werden. Bevorzugte Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen bei der Multiplen Sklerose sind MBP (Myelin-Basisches-Protein), MOG (Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein), MAG (Myelin-Assoziiertes-Glykoprotein) und PLP (Proteolipid-Protein), bevorzugte spezifische antigenen Komponenten pathogener Mikroorganismen sind Hülpproteine oder Membranglycolipid-Komplexe.

Vorteilhaft an den bevorzugten und den besonders bevorzugten Inhibitoren ist insbesondere die einfache Zugänglichkeit, der geringe Preis und die einfache galenische Verarbeitbarkeit.

Daher betrifft die Erfindung auch die Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität

zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer pharmazeutischen Zubereitung zur Induktion von Produktion von TGF- β 1 und Expression von TGF- β 1 in und/oder auf Treg-Zellen.

Als Inhibitoren kommen alle Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidasen und alle Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität in Betracht. Bevorzugt kommen Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, Arphamenin, MR 387, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren und deren Ester und Salze, α -Aminophosphonate, α -Aminoboronsäuren, α -Aminoaldehyde, Hydroxamate von α -Aminosäuren, N-Phenylphthalimide, N-Phenylhomophthalimide, α -Ketoamide, Thalidomid und dessen Derivate zum Einsatz. Besonders bevorzugt unter diesen sind α -Ketoamide, α -Aminophosphinsäuren, N-Phenylhomophthalimide, α -Aminophosphonate und Phebestin, wobei besonders bevorzugt als α -Ketoamide 3-Amino-2-oxo-4-phenylbutansäureamide, als α -Aminophosphinsäuren D-Phe- γ [PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, als N-Phenylhomophthalimide PAQ-22, als α -Aminophosphonate RB3014 und/oder Phebestin, und ganz besonders bevorzugt PAQ-22, RB3014 und/oder Phebestin eingesetzt werden.

Als Enzym mit gleicher Substratspezifität wie die Alanyl-Aminopeptidasen sei hier beispielhaft die zytosolische Alanyl-Aminopeptidase genannt. Für die zytosolische Alanyl-Aminopeptidase ist PAQ-22 spezifisch. Als bevorzugter Inhibitor der zytosolischen Alanyl-Aminopeptidase wird daher PAQ-22 verwendet, oder eine Mischung mehrerer Inhibitoren eingesetzt, die PAQ-22 umfaßt.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer pharmazeutischen Zubereitung zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen, von Allergien vom Typ I nach Gell und Coombs, wie Heuschnupfen, von Allergien vom Typ II, III oder IV und die Verwendung zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer pharmazeutischen Zubereitung zur Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen. Bevorzugte Erkrankungen und Transplantationsarten sind in den Unteransprüchen 26, 27, 29 und 31 aufgeführt. Bevorzugte Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und Enzyme gleicher Substratspezifität sind in den Ansprüchen 32 bis 35 genannt.

Bei der Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer pharmazeutischen Zubereitung zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen, von Allergien vom Typ I nach Gell und Coombs, wie Heuschnupfen, von Allergien vom Typ II, III oder IV und bei der Verwendung zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer pharmazeutischen Zubereitung zur Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen können zusätzlich Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen bei Multipler Sklerose oder synthetische Analoga und/oder spezifische antigene Komponenten pathogener Mikroorganismen eingesetzt werden, wobei als Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen bevorzugt MBP (Myelin-Basisches-Protein), MOG (Myelin-Oligodendro-zyten-Glykoprotein), MAG (Myelin-Assoziiertes-Glykoprotein) und/oder PLP (Proteolipid-Protein) und als spezifische antigene Komponenten pathogener Mikroorganismen Hüllproteine oder Membranglycolipid-Komplexe eingesetzt werden.

Des weiteren betrifft die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Zubereitung, umfassend einen Inhibitor oder mehrere Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder Enzyme gleicher Substratspezifität sowie einen oder mehrere pharmakologisch unbedenkliche Träger-, Zusatz- und/oder Hilfsstoffe. Die Erfindung betrifft ebenso eine pharmazeutische Zubereitung, die einen Inhibitor oder mehrere Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder Enzyme gleicher Substratspezifität und Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen oder synthetische Analoga und/oder spezifische antigene Komponenten pathogener Mikroorganismen sowie einen oder mehrere pharmakologisch unbedenkliche Träger-, Zusatz- und/oder Hilfsstoffe umfaßt.

Die Erfindung zeigt, dass zur Therapie von entzündlichen Erkrankungen und Autoimmunerkrankungen sowie allogenen Abstossungsreaktionen und Allergien, für deren Entstehung die Proliferation und die Aktivierung von pathogenen T-Zell-Klonen eine zentrale Rolle Bedeutung hat, die Applikation von Hemmstoffen der oben genannten Enzyme bzw. entsprechender Zubereitungen und Darreichungsformen daraus geeignet sind. Die gleichzeitige Applikation von krankheitsspezifischen Antigenen erhöht diesen therapeutischen Effekt weiter und engt die Wirkung auf den pathogenetisch relevanten Prozeß ein.

Die Applikation von Aminopeptidase-Inhibitoren zur Induktion der TGF- β 1- Expression in/auf Treg-Zellen und damit zur Erhöhung der immunsuppressiven Funktion dieser pathogenetisch bedeutsamen inhibitorischen T-Zell-Population stellt bei den genannten Erkrankungen eine neuartige Methode und ergänzende, in den zentralen pathogenetischen Vorgang eingreifende Therapieform dar.

Der Inhibitor oder die mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität können in pharmazeutisch anwendbaren Formulierungs-komplexen als Inhibitoren, Substrate, Pseudosubstrate, inhibitorisch wirkende Peptide und Peptidderivate sowie als Antikörper dieses Enzyms zur Anwendung kommen. Bevorzugte Inhibitoren sind Bestatin, Phebestin, Probestin, Actinonin, Leuhistin, RB3014, PAQ-22 und deren Derivate, besonders bevorzugt sind Phebestin, RB3014 und/oder PAQ-22.

Die Verabreichung kann in allen geeigneten Formen geschehen, so zum Beispiel als topische Applikation in Form von Cremes, Salben, Pasten, Gelen, Lösungen, Sprays, Liposomen, Schüttelmixturen, Hydrokolloidverbänden bzw. anderen dermatologischen Grundlagen/Vehikeln einschließlich instillativer Applikation oder als systemische Applikation zur oralen, transdermalen, intravenösen, subcutanen, intracutanen, inhalativen, intramuskulären Anwendung in geeigneten Rezepturen bzw. in geeigneter Galenik oder in Anbindung an oder Einarbeitung in Mikropartikel zu Überwindung der Blut-Hirn-Schranke. Gleichzeitig kann die Applikation von „krankheitsspezifischen“ Antigenen (Peptidfragmente, Lipopolysaccharide u.a.) in entsprechenden Darreichungsformen den Therapieerfolg steigern.

Die Erfindung wird unter Bezugnahme auf die nachfolgenden Beispiele näher erläutert, ohne auf diese beschränkt zu sein.

Beispiel 1

Induktion der Oberflächenexpression von TGF- β 1 auf humanen regulatorischen T-Lymphozyten ($CD4^+CD25^+$) nach Inkubation mit dem Inhibitor Phebestin.

Die T-Zellen wurden 24h ohne Zusatz (Kontrolle), unter Zugabe von PHA und PMA und unter gleichzeitiger Zugabe von PHA/PMA mit Phebestin inkubiert. PHA (Phythaemagglutinin) und PMA (Phorbol-Myristat-Acetat) wurden als Mitogene und die Proliferation stimulierend Agentien eingesetzt. Anschließend erfolgte die Messung der Oberflächenexpression von TGF- β 1 mittels Durchflußzytometrie unter Verwendung des kommerziell verfügbaren polyklonalen anti-TGF- β 1 Antikörpers (Huhn-anti-Human; R & D Systems). Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt.

Beispiel 2

Induktion der Genexpression von TGF- β 1 in humanen regulatorischen T-Lymphozyten (CD4 $^+$ CD25 $^+$) nach Inkubation mit dem Inhibitor Phebestin.

Die T-Zellen wurden 24h ohne Zusatz (Kontrolle), unter Zugabe von PHA und PMA oder unter gleichzeitiger Zugabe von PHA/PMA mit Phebestin inkubiert. PHA (Phythaemagglutinin) und PMA (Phorbol-Myristat-Acetat) wurden als Mitogene und die Proliferation stimulierend Agentien eingesetzt. Anschließend wurde mittels quantitativer RT-PCR unter Verwendung des i-Cyclers der Gehalt an TGF β 1-mRNA bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 2 dargestellt.

Beispiel 3

Induktion der Genexpression von TGF- β 1 auf humanen regulatorischen T-Lymphozyten (CD4 $^+$ CD25 $^+$) nach Inkubation mit dem Inhibitor PAQ-22.

Die T-Zellen wurden 24h ohne Zusatz (Kontrolle), unter Zugabe von PHA und PMA oder unter gleichzeitiger Zugabe von PHA/PMA mit PAQ-22 inkubiert. PHA (Phythaemagglutinin) und PMA (Phorbol-Myristat-Acetat) wurden als Mitogene und die Proliferation stimulierend Agentien eingesetzt. Anschließend wurde mittels quantitativer RT-PCR unter Verwendung des i-Cyclers der Gehalt an TGF β 1-mRNA bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3 dargestellt.

Beispiel 4

Induktion der Genexpression von TGF- β 1 auf humanen regulatorischen T-Lymphozyten (CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$) nach Inkubation mit dem Aminopeptidase-Inhibitor RB3014.

Die T-Zellen wurden 72h ohne Zusatz (Kontrolle), unter Zugabe von PHA und PMA oder unter gleichzeitiger Zugabe von PHA/PMA mit RB3014 inkubiert. PHA (Phythaemagglutinin) und PMA (Phorbol-Myristat-Acetat) wurden als Mitogene und die Proliferation stimulierend Agentien eingesetzt. Anschließend wurde mittels quantitativer RT-PCR unter Verwendung des i-Cyclers der Gehalt an TGF- β 1-mRNA bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4 dargestellt.

Patentansprüche

1. Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Induktion von Produktion von TGF- β 1 und Expression von TGF- β 1 in und/oder auf Treg-Zellen.
2. Verwendung nach Anspruch 1, bei der der eine Inhibitor oder die mehreren Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität mindestens ein Mitglied gewählt aus der Gruppe bestehend aus Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, Arphamenin, MR 387, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren und deren Ester und Salze, α -Aminophosphonate, α -Aminoboronsäuren, α -Aminoaldehyde, Hydroxamate von α -Aminosäuren, N-Phenylphthalimide, N-Phenylhomophthalimide, α -Ketoamide, Thalidomid und dessen Derivate ist.
3. Verwendung nach Anspruch 2, bei der als der eine Inhibitor oder die mehreren Inhibitoren α -Ketoamide, bevorzugt 3-Amino-2-oxo-4-phenylbutansäureamide, α -Aminophosphinsäuren, bevorzugt D-Phe- γ [PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, N-Phenylhomophthalimide, bevorzugt PAQ-22, α -Aminophosphonate, bevorzugt RB3014 und/oder Phebestin, besonders bevorzugt PAQ-22, RB3014 und/oder Phebestin, eingesetzt werden.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei der als Enzym gleicher Substratspezifität zytosolische Alanyl-Aminopeptidase dient.
5. Verwendung nach Anspruch 4, bei der als der eine Inhibitor PAQ-22 eingesetzt wird oder die mehreren Inhibitoren PAQ-22 umfassen.
6. Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen.

7. Verwendung nach Anspruch 6 zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Rheumatoider Arthritis, Lupus erythematodes, Multipler Sklerose, IDDM, Morbus Crohn, Colitis Ulcerosa, Psoriasis, Neurodermitis, Glomerulonephritis, interstitieller Nephritis, Vaskulitis, autoimmuner Schilddrüsenerkrankungen, autoimmunhämolytischer Anämie, oder anderen chronischen Erkrankungen mit entzündlicher Genese wie Arteriosklerose.
8. Verwendung nach Anspruch 6 oder Anspruch 7 zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Multipler Sklerose oder Arteriosklerose.
9. Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Allergien vom Typ I nach Gell und Coombs, Heuschnupfen oder Allergien vom Typ II, III oder IV.
10. Verwendung nach Anspruch 9 zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Asthma bronchiale oder Heuschnupfen als Allergie vom Typ I nach Gell und Coombs un/oder Kontaktallergien als Allergien vom Typ II, III oder IV.
11. Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen.
12. Verwendung nach Anspruch 11 bei Nieren- oder Knochenmarktransplantationen.
13. Verwendung nach einem der Ansprüche 6 bis 12, bei der der eine Inhibitor oder die mehreren Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität mindestens ein Mitglied gewählt aus der Gruppe bestehend aus Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, Arphamenin, MR 387, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren und deren Ester und Salze, α -Aminophosphonate, α -Aminoboronsäuren, α -Aminoaldehyde, Hydroxamate von α -Aminosäuren, N-Phenylphthalimide, N-Phenylhomophthalimide, α -Ketoamide, Thalidomid und dessen Derivate ist.

14. Verwendung nach Anspruch 13, bei der als der eine Inhibitor oder die mehreren Inhibitoren α -Ketoamide, bevorzugt 3-Amino-2-oxo-4-phenylbutansäureamide, α -Aminophosphinsäuren, bevorzugt D-Phe- γ [PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, N-Phenylhomophthalimide, bevorzugt PAQ-22, α -Aminophosphonate, bevorzugt RB3014 und/oder Phebestin, besonders bevorzugt PAQ-22, RB3014 und/oder Phebestin, eingesetzt werden.
15. Verwendung nach einem der Ansprüche 6 bis 14, bei der als Enzym gleicher Substratspezifität zytosolische Alanyl-Aminopeptidase dient.
16. Verwendung nach Anspruch 15, bei der als der eine Inhibitor PAQ-22 eingesetzt wird oder die mehreren Inhibitoren PAQ-22 umfassen.
17. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 16, bei der zusätzlich Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen oder synthetische Analoga und/oder spezifische antigene Komponenten pathogener Mikroorganismen eingesetzt werden.
18. Verwendung nach Anspruch 17, bei der als Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen MBP (Myelin-Basisches-Protein), MOG (Myelin-Oligodendrozyten-Glycoprotein), MAG (Myelin-Assoziiertes-Glykoprotein) und/oder PLP (Proteolipid-Protein) eingesetzt werden.
19. Verwendung nach Anspruch 17 oder 18, bei der als spezifische antigene Komponenten pathogener Mikroorganismen Hüllproteine oder Membranglycolipid-Komplexe eingesetzt werden.
20. Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer pharmazeutischen Zubereitung zur Induktion von Produktion von TGF- β 1 und Expression von TGF- β 1 in und/oder auf Treg-Zellen..
21. Verwendung nach Anspruch 20, bei der der eine Inhibitor oder die mehreren Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität mindestens ein Mitglied gewählt aus der Gruppe bestehend aus Actinonin, Leuhistin,

Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, Arphamenin, MR 387, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren und deren Ester und Salze, α -Aminophosphonate, α -Aminoboronsäuren, α -Aminoaldehyde, Hydroxamate von α -Aminosäuren, N-Phenylphthalimide, N-Phenylhomophthalimide, α -Ketoamide, Thalidomid und dessen Derivate ist.

22. Verwendung nach Anspruch 21, bei der als der eine Inhibitor oder die mehreren Inhibitoren α -Ketoamide, bevorzugt 3-Amino-2-oxo-4-phenylbutansäureamide, α -Aminophosphinsäuren, bevorzugt D-Phe- γ [PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, N-Phenylhomophthalimide, bevorzugt PAQ-22, α -Aminophosphonate, bevorzugt RB3014 und/oder Phebestin, besonders bevorzugt PAQ-22, RB3014 und/oder Phebestin, eingesetzt werden.
23. Verwendung nach einem der Ansprüche 20 bis 22, bei der als Enzym gleicher Substratspezifität zytosolische Alanyl-Aminopeptidase dient.
24. Verwendung nach Anspruch 23, bei der als der eine Inhibitor PAQ-22 eingesetzt wird oder die mehreren Inhibitoren PAQ-22 umfassen.
25. Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer pharmazeutischen Zubereitung zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen.
26. Verwendung nach Anspruch 25 zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Rheumatoider Arthritis, Lupus erythematodes, Multipler Sklerose, IDDM, Morbus Crohn, Colitis Ulcerosa, Psoriasis, Neurodermitis, Glomerulonephritis, interstitieller Nephritis, Vaskulitis, autoimmuner Schilddrüsenerkrankungen, autoimmunhämolytischer Anämie, oder anderen chronischen Erkrankungen mit entzündlicher Genese wie Arteriosklerose.
27. Verwendung nach Anspruch 25 oder Anspruch 26 zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Multipler Sklerose oder Arteriosklerose.

28. Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer pharmazeutischen Zubereitung zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Allergien vom Typ I nach Gell und Coombs, Heuschnupfen oder Allergien vom Typ II, III oder IV.
29. Verwendung nach Anspruch 28 zur Vorbeugung und/oder Behandlung von Asthma bronchiale oder Heuschnupfen als Allergie vom Typ I nach Gell und Coombs un/oder Kontaktallergien als Allergien vom Typ II, III oder IV.
30. Verwendung von einem Inhibitor oder mehreren Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer pharmazeutischen Zubereitung zur Unterdrückung von Transplantat-Abstossungen.
31. Verwendung nach Anspruch 30 bei Nieren- oder Knochenmarktransplantationen.
32. Verwendung nach einem der Ansprüche 25 bis 31, bei der der eine Inhibitor oder die mehreren Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidasen und/oder von Enzymen gleicher Substratspezifität mindestens ein Mitglied gewählt aus der Gruppe bestehend aus Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, Arphamenin, MR 387, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren und deren Ester und Salze, α -Aminophosphonate, α -Aminoboronsäuren, α -Aminoaldehyde, Hydroxamate von α -Aminosäuren, N-Phenylphthalimide, N-Phenylhomophthalimide, α -Ketoamide, Thalidomid und dessen Derivate ist.
33. Verwendung nach Anspruch 32, bei der als der eine Inhibitor oder die mehreren Inhibitoren α -Ketoamide, bevorzugt 3-Amino-2-oxo-4-phenylbutansäureamide, α -Aminophosphinsäuren, bevorzugt D-Phe- γ [PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, N-Phenylhomophthalimide, bevorzugt PAQ-22, α -Aminophosphonate, bevorzugt RB3014 und/oder Phebestin, besonders bevorzugt PAQ-22, RB3014 und/oder Phebestin, eingesetzt werden.

34. Verwendung nach einem der Ansprüche 25 bis 33, bei der als Enzym gleicher Substratspezifität zytosolische Alanyl-Aminopeptidase dient.
35. Verwendung nach Anspruch 34, bei der als der eine Inhibitor PAQ-22 eingesetzt wird oder die mehreren Inhibitoren PAQ-22 umfassen.
36. Verwendung nach einem der Ansprüche 20 bis 35, bei der zusätzlich Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen oder synthetische Analoga und/oder spezifische antigene Komponenten pathogener Mikroorganismen eingesetzt werden.
37. Verwendung nach Anspruch 36, bei der als Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen MBP (Myelin-Basisches-Protein), MOG (Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein), MAG (Myelin-Assoziiertes-Glykoprotein) und/oder PLP (Proteolipid-Protein) eingesetzt werden.
38. Verwendung nach Anspruch 36 oder 37, bei der als spezifische antigene Komponenten pathogener Mikroorganismen Hülpproteine oder Membranglycolipid-Komplexe eingesetzt werden.
39. Pharmazeutische Zubereitung, umfassend einen Inhibitor oder mehrere Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder Enzyme gleicher Substratspezifität sowie einen oder mehrere pharmakologisch unbedenkliche Träger-, Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.
40. Pharmazeutische Zubereitung, umfassend einen Inhibitor oder mehrere Inhibitoren von Alanyl-Aminopeptidasen und/oder Enzyme gleicher Substratspezifität und Peptidfragmente von pathogenen Autoantigenen oder synthetische Analoga und/oder spezifische antigene Komponenten pathogener Mikroorganismen sowie einen oder mehrere pharmakologisch unbedenkliche Träger-, Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.

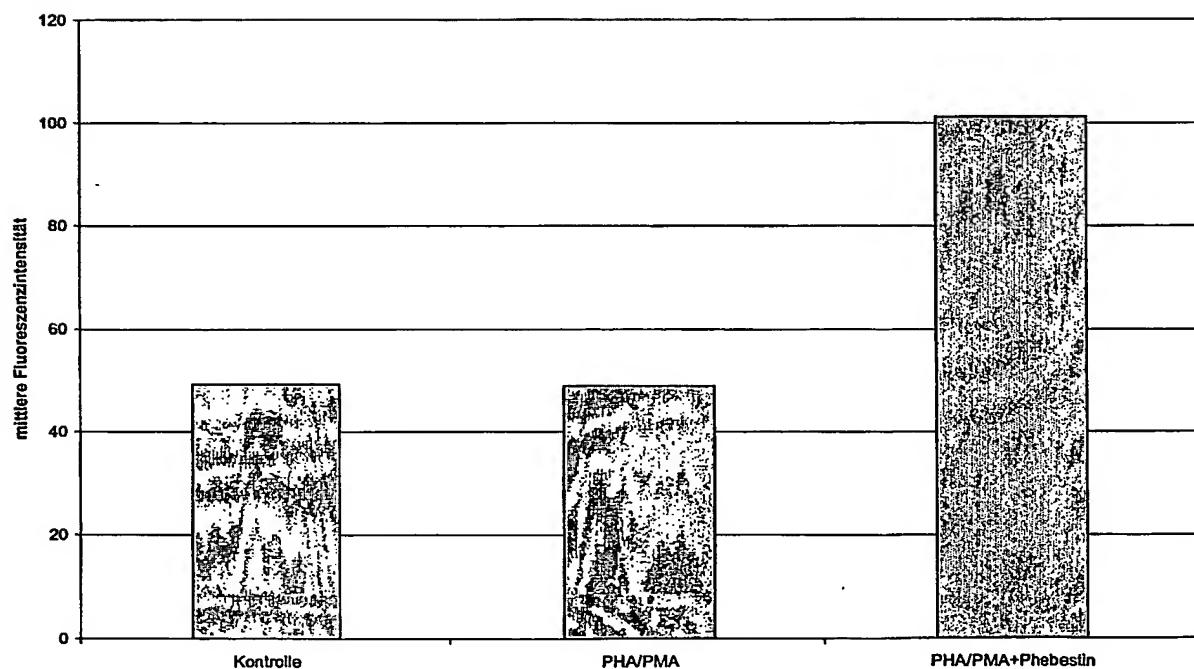


Abb.1: Induktion der Oberflächenexpression von TGF- β 1 auf humanen regulatorischen T-Lymphozyten.

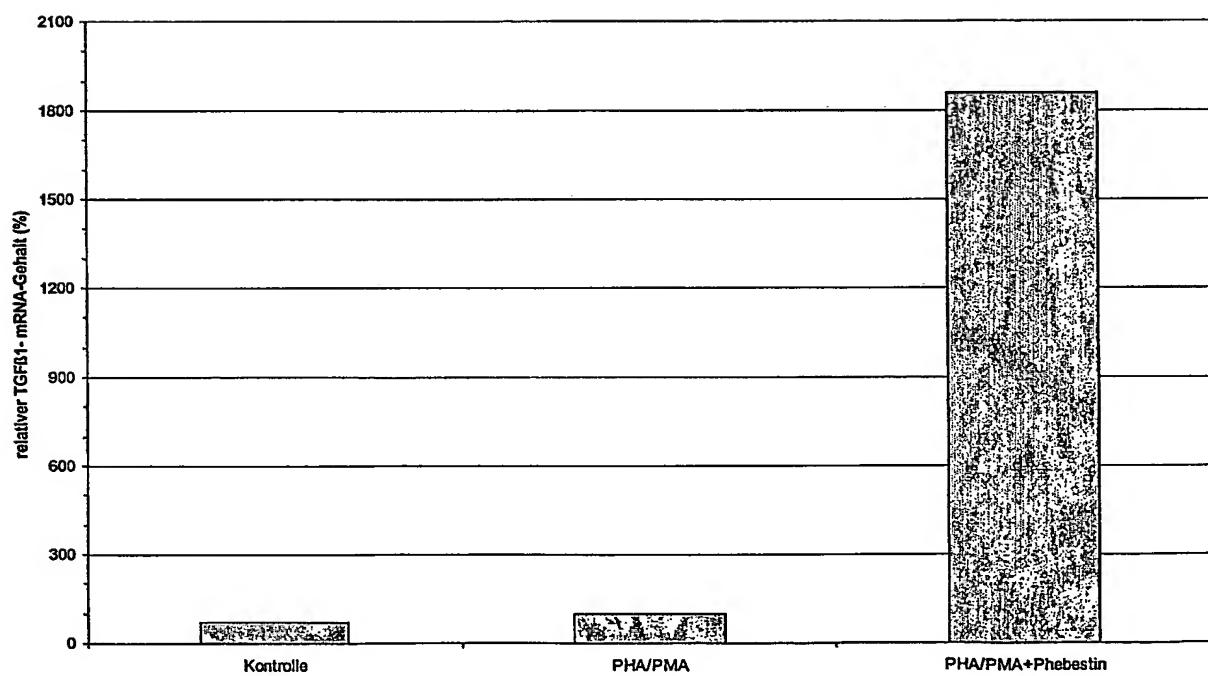


Abb. 2: Induktion der mRNA-Expression TGF- β 1 in humanen regulatorischen T-Lymphozyten.

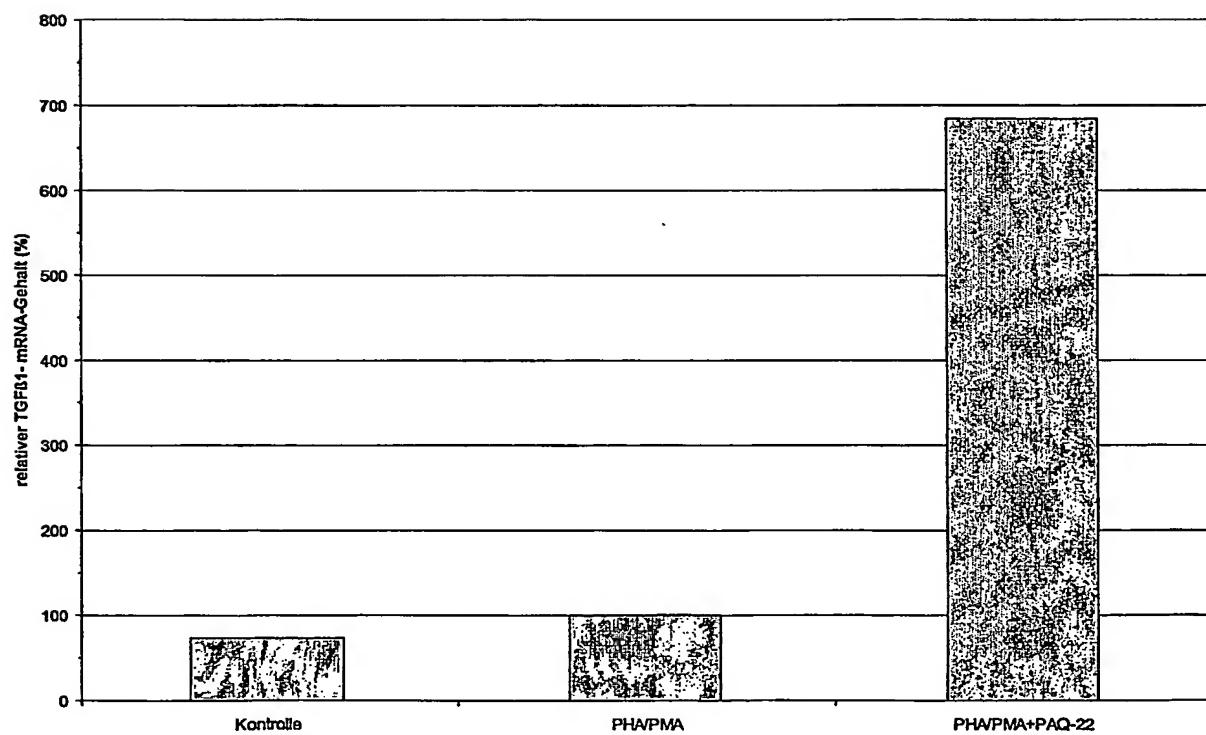


Abb. 3: Induktion der mRNA-Expression TGF- β 1 in humanen regulatorischen T-Lymphozyten.

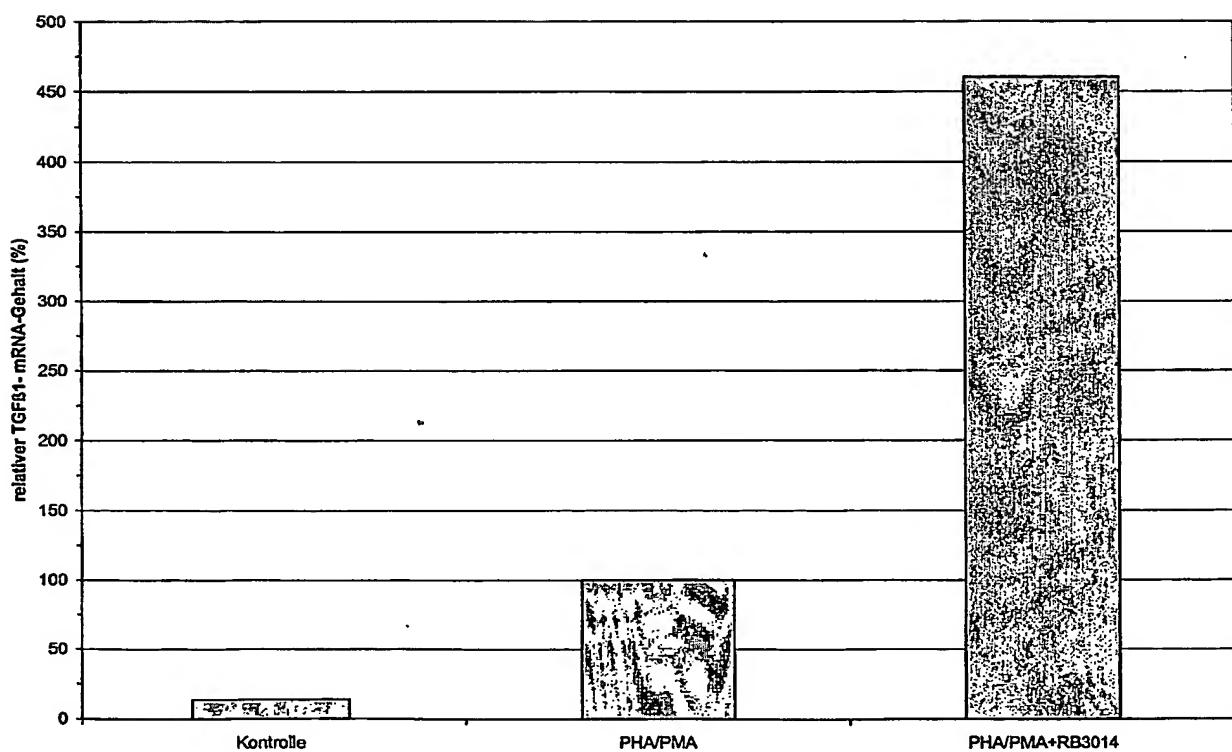


Abb. 4: Induktion der mRNA-Expression TGF- β 1 in humanen regulatorischen T-Lymphozyten.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.